

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Prediplomski studij Prehrambena tehnologija

Marija Barišić

6523/PT

**UTJECAJ RAZLIČITIH NAČINA HRANIDBE SVINJA NA KVALITETU TRAJNIH
KOBASICA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija mesa i ribe

Mentor: prof.dr. sc. Helga Medić

Zagreb, 2017

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za kemiju i tehnologiju mesa i ribe

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ RAZLIČITIH NAČINA HRANIDBE SVINJA NA KVALITETU TRAJNIH KOBASICA

Marija Barišić, 0058201454

Sažetak: Cilj istraživanja bio je odrediti utjecaj hranidbe svinja na kemijski sastav te sastav masnih kiselina trajnih kobasica. Ispitivane su dvije vrste trajnih kobasica. Jedna vrsta je napravljena od mesa svinja hranjenih žirom dok je druga napravljena od mesa svinja hranjenih kontrolnom smjesom. Metodom sušenja određen je udio vode. Uzorci sa žirom sadrže 27 % vode, a kontrolni uzorci sadrže 25% vode. Metoda po Kjeldahl-u je pokazala da uzorci sa žirom sadrže veći udio proteina (41%) od kontrolnih uzoraka (33%). Udio masti, određen metodom po Soxhletu, veći je u kontrolnim uzorcima (34%) nego u uzorcima sa žirom (33%). Usporedbom sastava masnih kiselina u kontrolnim uzorcima i uzorcima sa žirom, veći udio zasićenih masnih kiselina sadrže uzorci sa žirom. Kontrolni uzorci sadrže veći udio višestruko nezasićenih masnih kiselina, a omjer ω -6/ ω -3 je u uzorcima sa žirom veći. Stupanj oksidacije, određen TBA testom, veći je u uzorcima s žirom.

Ključne riječi: trajne kobasice, kemijski sastav, TBA test, sastav masnih kiselina

Rad sadrži: 24 stranice, 8 slika, 2 tablice, 27 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Prof.dr. sc. Helga Medić

Pomoć pri izradi: dr.sc. Nives Marušić Radovčić, viši asistent

Rad predan: 19.rujna 2017

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for meat and fish technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology or Biotechnology or Nutrition

THE INFLUENCE OF DIFFERENT WAYS OF FEEDING PIGS ON THE QUALITY OF FERMENTED SAUSAGES

Marija Barišić, 0058201454

Abstract: The aim of the research was to determine the influence of the feeding of pigs on the chemical composition and fatty acids composition of fermented sausages. Two types of fermented sausages were analysed. One type was made from meat of the pigs fed with acorn while the other one is made from meat of pigs fed with a control mixture. The water content was determined by drying method. Samples with acorn contain 27% water, and control samples contain 25% water. The method by Kjeldahl has shown that the samples with acorn have higher content of protein (41%) than the control samples (33%). The fat content, determined by the Soxhlet method, was higher in the control samples (34%) than in the samples with acorn (33%). By comparing the fatty acid composition in the control and the acorn samples, the larger proportion of saturated fatty acids contain the samples with acorn. Control samples contain a higher proportion of unsaturated fatty acids, the ratio of ω -6 / ω -3 is higher in acorn samples. The degree of oxidation, determined by the TBA test, is higher in the samples with acorn.

Keywords: persistent sausages, chemical composition, TBA test, fatty acid composition

Thesis contains: 24 pages, 8 figures, 2 tables, 27 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000

Mentor: PhD. Helga Medić, Full Professor

Technical support and assistance: PhD. Nives Marušić Radovčić, senior assistant

Thesis delivered: 19. September 2017

SADRŽAJ

1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. KATEGORIZACIJA MESA	2
2.2. KOBASICE	3
2.3. TRAJNE KOBASICE.....	4
2.4. KEMIJSKI SASTAV TRAJNIH KOBASICA	5
2.4.1. Proteini	6
2.4.2. Lipidi	6
3. EKSPERIMENTALNI DIO	8
3.1. MATERIJALI	8
3.2. METODE	9
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	14
5. ZAKLJUČCI	21
6. POPIS LITERATURE	22

1.UVOD

Trajne kobasice su proizvodi od mesa, masnog tkiva i dodatnih sastojaka koji se nakon obrade i punjenja podvrgavaju postupcima fermentacije, sušenja i zrenja sa ili bez dimljenja [1]. Trajne kobasice spadaju u skupinu kobasičarskih proizvoda, sadrže proteine i masti koji su izvori energije, ali su i gradivni elementi (proteini). Zbog svog sastava i dugog roka trajanja kobasice imaju široku primjenu u svakodnevnici. Mogu se vrlo lako i na mnoge načine pripremiti i to u kratkom vremenu. U današnjici, kada je ključ svega vrijeme, to je od velike važnosti mnogima. Zbog široke primjene i pristupačnosti potrebno je utvrditi hranjivu vrijednost i kemijski sastav kobasica. Na njihov kemijski sastav utječu brojni čimbenici i to počevši od hranidbe životinja, koje se koriste za proizvodnju kobasica, pa do tehnološkog procesa proizvodnje. Različitom hranidbom životinja utječemo na sastav gotovog proizvoda; npr. hranidba svinja žirom rezultira mesom koje je bogatije α -tokoferolom i koje sadrži manji udio zasićenih masnih kiselina [2].

Cilj ovoga istraživanja bio je odrediti utjecaj hranidbe svinja žirom na kemijski sastav (udio vode, proteina i masti), stupanj oksidacije te sastav masnih kiselina u trajnim kobasicama.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KATEGORIZACIJA MESA

Meso je animalni proizvod, odnosno hrana dobivena klanjem životinja, i to: goveda, bivola, svinja, ovaca, koza i kopitara, te peradi i kunića. Meso je i hrana dobivena odstrelom ili klanjem divljači. U užem smislu pod pojmom mesa podrazumijeva se skeletno mišićje sa uraslim masnim i vezivnim tkivom, kostima i hrskavicama, krvnim i limfnim žilama, limfnim žlijezdama te živcima. Nakon pripreme životinja i klanja slijedi obrada trupova. Trupovi se najčešće rasijecaju na polovice ili na osnovne dijelove trupa te se zamrzavaju ili hlade. Hlađenjem je završena primarna klaonička obrada. Nakon primarne klaoničke obrade meso se dalje rasijeca na osnovne komade, veličinom i oblikom prikladne za daljnju obradu ili rasijecanje na prodajnom mjestu. Daljnje rasijecanje mesa se vrši prema namjeni mesa, industrijsko ili komercijalno rasijecanje, te se svrstava u kategorije [3].

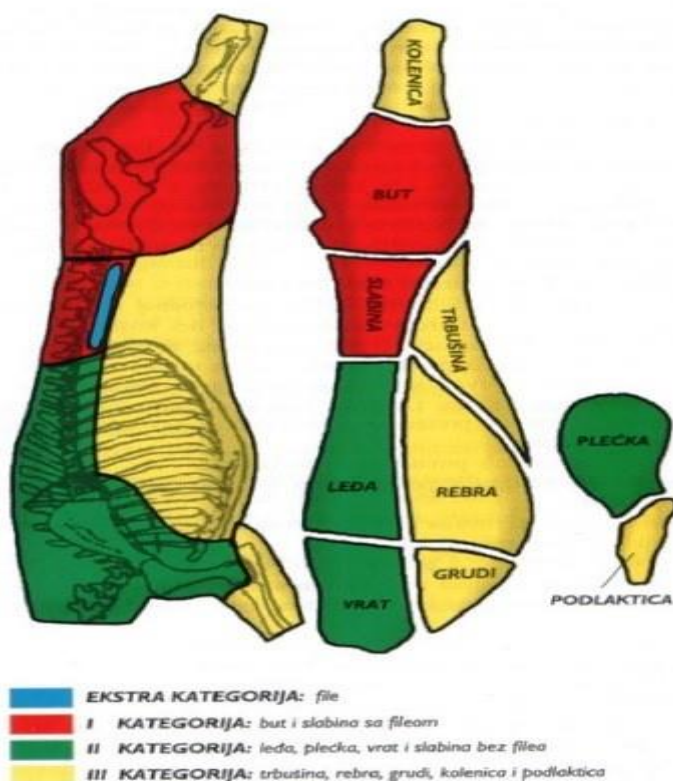
Kategorizacija mesa je postupak razvrstavanja mesa u komercijalne svrhe. Meso se kategorizira prema namjeni. Industrijska kategorizacija je za meso u preradi, koja se zasniva na stupnju očišćenosti mišićnog tkiva od grubog vezivnog i masnog tkiva. Druga kategorizacija je za meso u prodaji i određuje se prema anatomske lokaciji osnovnih dijelova trupa zaklane životinje.

Kategorizacija mesa za prodaju, prema kojoj se meso dijeli u III kategorije:

I.kategorija: but i slabinski dio leđa (kare)

II.kategorija: leđa, lopatica bez podlopatice

III.kategorija: vrat, podlopatice, prsa, rebra, koljenica i podlaktica



Slika 1. Kategorizacija mesa za prodaju [4]

Industrijska kategorizacija mesa:

I. kategorija: meso očišćeno od tetiva i većeg broja krvnih žila i limfnih žlijezda te naslaga masnog tkiva

II. kategorija: meso bez većih nakupina uraštenog vezivnog i masnog tkiva, te mesni obresci

III. kategorija: mesni obresci s najviše 35% masnog tkiva, meso glava i bočnjaka

IV. kategorija: mesni obresci koji sadrže 35 – 50% masnog tkiva, te krvavo meso, ostaci osrčja i medijastinuma.

2.2. KOBASICE

Kobasice su najbrojnija i najstarija skupina mesnih prerađevina. Proizvode se na razne načine, što ovisi, prije svega, o kulturi naroda, klimi pojedine zemlje te dostupnosti pojedinih začina i aditiva. Proizvode se od svinjetine, govedine, piletine, morskih plodova, janjetine i teletine. No, u većini slučajeva, osnovni sastojci za proizvodnju su svinjsko meso, začini sol, češnjak i papar, te nerijetko crvena mljevena paprika, bilo ljuta ili slatka ili pak u kombinaciji.

Ovisno o količini pojedinog začina kobasica ima karakterističan okus. Dodavanje začina, osim poboljšanja organoleptičkih svojstava, sprječava i rast mikroorganizama.

Prije Krista (oko 1500 god.) otkriveno je da se mesu produljuje trajnost kada se usitni i miješa sa solju i začinima, te puni u ovitke i suši, to su početci proizvodnje kobasica. No, prvi dokumentirani podaci o proizvodnji kobasica datiraju 900. godine prije Krista. Tada se u Homerovoj Odiseji spominju kozji ovitci punjeni mašću i krvlju. One su vjerojatno izumljene kao sredstvo očuvanja krvi i (sitnih komadića) mesa u prikladnim ovitcima – želucima i crijevima zaklane životinje. U počecima su se kobasice proizvodile u svrhu štedljivosti i za siromašne, no s vremenom su se razvile u delicije vrijedne gurmanske pažnje [5].

Prema pravilniku, kobasice su proizvodi dobiveni punjenjem prirodnih ili umjetnih ovitaka (ili se oblikuju bez ovitka) s različitim vrstama i količinama usitnjenog i strojno otkošenog mesa, masnog i vezivnog tkiva različitog stupnja usitnjenosti, iznutrica te dodatnih sastojaka [1]. S obzirom na sastav, tehnološki postupak proizvodnje te način konzerviranja, kobasice se mogu podijeliti na:

1) trajne kobasice

2) toplinski obrađene kobasice

3) svježe kobasice

2.3. TRAJNE KOBASICE

Po prehrambenoj vrijednosti i sirovinskom sastavu ova skupina je najkvalitetniji i komercijalno najvrijedniji kobasičarski proizvod. Proizvode se od grubog do finog usitnjenog svinjskog mesa I. i II. kategorije (industrijska kategorizacija) uz dodatak goveđeg ili ovčjeg mesa, čvrstog masnog tkiva (ČMT) i dodatnih sastojaka. Nadijevaju se u svinjska, goveđa i konjska crijeva ili u razne umjetne ovitke koji moraju biti propusni.

Nakon obrade i punjenja podvrgavaju se procesu fermentacije, sušenja i zrenja sa ili bez dimljenja. Prema pravilniku maksimalna dopuštena količina vode je 40%, dok količina proteina mora minimalno iznositi 16% [1]. Ovisno o usitnjenosti mesa, vrsti punjenja te dodacima i promjeru ovitka, dijelimo ih na salame (zimsko, milansko, srijemsko) i kulen.

Proizvodnja trajnih kobasica započinje pripremom sirovina (iskoštavanjem mesa), nakon čega se meso usitnjava u stroju za mljevenje mesa. Meso se zatim hladi kroz 48 sati na temperaturi $0 - 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ te se cijedi i namrzava na temperaturu od -3 do $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Čvrsto masno tkivo (ČMT) se izreže na kockice i namrzava na temperaturu do $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zatim se dodaje suha salamura i drugi aditivi te smjesa začina (sol za salamurenje, askorbinska kiselina, ugljikohidrati, začini i aromatsko bilje). Svi sastojci se zajedno izmiješaju te se kobasice nadijevaju u vakuumu kako nebi došlo do fermentacije uz kisik. Nadijevane kobasice idu na hladno dimljenje i sušenje ($10-15\text{ }^{\circ}\text{C}/5-7$ dana) te zrenje. Nakon završetka zrenja kobasice se opremaju (posipaju praškom, stavlja se deklaracija), ambalažiraju i stavljaju u promet.



Slika 2. Nadijevanje kulena [6]

2.4. KEMIJSKI SASTAV TRAJNIH KOBASICA

Prema kemijskom sastavu trajne kobasice sadrže najmanji udio vode (do 40%) s obzirom na druge kobasičarske proizvode. One se vrlo bogat izvor proteina i masti koji su potrebni našem organizmu bilo kao izvori energije ili kao gradivni elementi. U sastavu trajnih kobasica također se nalazi i određena količina aditiva koja se dodaje tijekom procesa proizvodnje. Aditivi su tvari poznate kemijske strukture, koji se uobičajeno ne konzumiraju, niti su tipičan sastojak hrane. Služe za poboljšanje organoleptičkih svojstava hrane (boja, okus, miris i konzistencija), njezino konzerviranje i čuvanje. Prema svim dosadašnjim znanstvenim spoznajama, primjena dozvoljenih aditiva je sigurna, a konzumiranje hrane koja ih sadrži u

dopuštenim količinama ne predstavlja zdravstveni rizik [7]. Zbog svog djelovanja vrlo važno je utvrditi količinu i vrstu aditiva u tehnološkom procesu proizvodnje [8].

2.4.1. Proteini

Minimalna količina proteina mesa u trajnim kobasicama prema pravilniku [1] mora iznositi 16%. Proteini mesa su visoko vrijedni jer sadrže sve esencijalne aminokiseline u optimalnom odnosu pa ih ljudski organizam može maksimalno iskoristiti. Dnevna potreba odraslog čovjeka za proteinima je 0,8 g proteina na 1 kg tjelesne mase. 250 do 300 g moglo bi zadovoljiti dnevne potrebe za proteinima. No, zbog pozitivnog efekta nutritivnih vlakana poželjno je da samo trećina proteina bude životinjskoga podrijetla, a ostale dvije trećine biljnoga podrijetla. To bi značilo da je čovjeku dovoljno da dnevno konzumira 100 – 150 g mesa [9]. Kako bi imali što potpunije iskorištenje aminokiselina potrebno je pripremiti jelo s više različitih proteina. Na taj način je sadržaj proteina izbalansiran. Da bi odnos aminokiselina bio povoljan barem polovina dnevnog obroka treba biti životinjskog podrijetla [9].

2.4.2. Lipidi

Mast je najvarijabilnija komponenta mišića, a udio vode i masti u mišićima je obrnuto proporcionalan. Vrlo važna je za arome te teksturu gotovog proizvoda, a i smanjuje cijenu gotovog proizvoda. Mast je glavni izvor energije u hrani. Animalni lipidi su uglavnom triacilgliceroli koji su izgrađeni od glicerola i tri različite masne kiseline. Masne kiseline koje izgrađuju triacilglicerole mogu biti zasićene i nezasićene masne kiseline. Prije svega na sastav masnih kiselina utječe hranidba životinja. Temperatura usitnjavanja i miješanja kao i razvoj užeglosti također utječe na njihov sastav. Molekule masti služe kao izvori energije i deponiraju se u masnim (adipoznim) stanicama, koje sadrže mnoge lipidne stanice. U sastav lipida ulaze masne kiseline sa 4 – 24 ugljikova atoma i to isključivo sa parnim brojem C – atoma. No, najviše dominiraju masne kiseline sa 16 – 18 C – atoma (stearinska, palmitinska i oleinska) [10].

Razlikujemo tri tipa masnih kiselina (MK), zasićene (SFA), mononezasićene (MUFA) i polinezasićene (PUFA) masne kiseline. Kod zasićenih masnih kiselina svi C – atomi su međusobno povezani jednostrukim vezama te ovaj tip masnih kiselina dominira u lipidima

koji su u čvrstom stanju na sobnoj temperaturi. Ako su jedna ili više veza između C – atoma međusobno povezane dvostrukom vezom tada MK spadaju u skupinu nezasićenih MK. Mononezasićene MK sadrže jednu dvostruku vezu dok polinezasićene sadrže dvije ili više nezasićenih veza. Esencijalne masne kiseline ljudski organizam ne može sintetizirati te ih je stoga potrebno unijeti hranom. Oko 20% unešene dnevne energije bi trebale biti esencijalne MK. Kobasice sadrže određenu količinu linolne i linolenske kiseline koje spadaju u skupinu esencijalnih MK što pokazuje pozitivan učinak kobasica na ljudski organizam.

Jedan od uzroka kvarenja mesa i mesnih proizvoda je lipidna oksidacija. Ona se odvija na masnim kiselinama, a posebice na polinezasićenim MK. Masne kiseline se već pri sobnoj temperaturi mijenjaju putem oksidacije. Pri tome se molekule MK razlažu na slobodne reaktivne radikale (ketone, perokside, aldehide i alkohole). Primarni produkti autooksidacije su hidroperoksidi, a njihovom razgradnjom nastaju sekundarni produkti kao pentanal, heksanal, 4-hidroksinonenal i malonilaldehid (MDA). Kisik, UV svjetlo i teški metali (u malim količinama) ubrzavaju oksidaciju MK. Oksidacija MK mijenja kvalitetu proizvoda, mijenja se boja, okus, miris, tekstura pa čak i nutritivna vrijednost. Stoga se masne kiseline nerijetko tretiraju s antioksidansima kako bi se spriječila i usporila oksidacija. Za detekciju oksidacije masnih kiselina koristi se test tiobarbiturne kiseline (TBA test).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za istraživanje su korišteni uzorci trajnih kobasica iz dviju serija (šarži) (POKUSNE - žir i KONTROLNE - smjesa) proizvedenih od svinja autohtone turopoljske pasmine iz otvorenog uzgoja, hranjenih sa ili bez dodatka žira. Obje su serije salama proizvedene u istom mesno-prerađivačkom objektu u okolici Zagreba (IGO-MAT d.o.o., Otruševac) korištenjem jednakih sastojaka i prema istoj recepturi i tehnološkim parametrima prerade. Ukratko, odabrano i prethodno usitnjeno svinjsko meso (dijelovi leđa, lopatice i vrata) i čvrsto masno tkivo (leđna slanina) izmiješani su uz dodatak 2,5 % soli i začina (crni papar u zrnu i mljeveni, češnjak) te nadjeveni u kolagenske ovitke većeg promjera (\varnothing 55 mm) do ukupne mase punjenja od oko 1 kg. Po nadijevanju, salame su podvezane špagom, hladno dimljene u dimnoj komori ($T=18^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=80\%$) te podvrgnute fermentaciji i zrenju u kontroliranim uvjetima ($T=12^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=75\%$) kroz 90 dana, nakon čega su vakuumirane i čuvane na hladnom ($T=4^{\circ}\text{C}$) i tamnom u prostoru za pohranu gotovih proizvoda. Jedina razlika između dvije šarže proizvedenih trajnih kobasica bila je u završnoj hranidbi svinja čije su meso i masno tkivo korišteni kao sirovina u proizvodnji salama. Naime, P serija salama bila je proizvedena od turopoljskih svinja koje su kroz period 1,5 mjesec prije klanja bile hranjene standardnom krmnom smjesom za tov (ST-2) uz dodatak žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.), koji se nekada tradicionalno koristio u hranidbi turopoljskih svinja, dok su salame serije K bile proizvedene od turopoljskih svinja koje su u navedenom periodu bile hranjene samo standardnom krmnom smjesom za svinje u tovu. Prosječna dob i završna masa tovljenika prije klanja iznosila je $18,15 \pm 1,4$ mjeseci i $94,8 \pm 11,5$ kg.

Za svaki uzorak napravljene su 4 paralelne probe te su rezultati iskazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija.

3.2. METODE

3.2.1. Određivanje udjela vode

Prilikom određivanja udjela vode u kobasicama korištena je standardna ISO metoda [11] sušenja do konstantne mase. Sušenje se vrši u sušioniku na temperaturi $103 \pm 2^\circ\text{C}$. U prethodno osušene i izvagane aluminijske zdjelice (u koje je prije sušenja stavljen stakleni štapić i oko 5 g kvarcnog pijeska) izvagano je oko 3 g (s točnošću $\pm 0,001\text{g}$) homogeniziranog uzorka. Uzorak je zatim sušen do postizanja konstantne mase tj. dok razlika u masi dva uzastopna sušenja ne iznosi više od 1 – 3 mg. Udio vode (w) je zatim izračunat prema formuli:

$$w = \frac{m1 - m2}{m1 - m0} * 100$$

3.2.2. Određivanje udjela proteina

Slijepa proba

Slijepa proba se radi svaki puta kada se svježe pripremi borna kiselina i natrijev hidroksid. Za slijepu probu u Kjeldahlovu kivetu stavljena je Al-folija, 10 mL koncentrirane sumporne kiseline (H_2SO_4) te je postepeno dodavano 10 mL 30% H_2O_2 .

Uzorci mesa

Za određivanje proteina korištena je standardna ISO metoda po Kjeldahl-u [12]. Na listić aluminijske folije izvagano je 2 g uzorka (s točnošću $\pm 0,01\text{ g}$), folija se umota te ubaci u Kjeldahlovu kivetu. U svaku kivetu dodane su 2 tablete Kjeldahl katalizatora, 10 mL koncentrirane H_2SO_4 te se postepeno dodaje 10 mL 30% H_2O_2 . Potrebno je sve lagano miješati dok se uzorak potpuno ne navlaži. Nakon završetka burne reakcije, uključena je vakuum sisaljka, a kivete su poklopljene s poklopcem. Zatim su kivete zajedno s poklopcem stavljene u grijač koji je prethodno bio zagrijan na oznaci 3 te je započelo spaljivanje. Takvo se spaljivanje provodi 45 minuta te se postepeno pojačava do 10. Kada je tekućina u kiveti bila svijetlozelene boje, a stijenke kivete čiste, uzorak se spalio. Spaljivanje je trajalo cca 3 sata. Nakon spaljivanja kivete su maknute s peći, stavljene na stalak zajedno s poklopcem te su se hladile (10 min). U ohlađene kivete dodano je 75 mL destilirane vode.

Destilacija

Na početku prve dnevne destilacije izvršeno je ispiranje na način da je u praznu kivetu stavljeno oko 100 mL destilirane vode te je ona predestilirana u praznu Erlenmeyerovu tikvicu. Nakon toga, u destilacijsku jedinicu na postolje stavljena je Erlenmayer tikvica u kojoj se nalazilo 25 mL borne kiseline te je podignuta kako bi destilacijska cjevčica bila uronjena u otopinu. Kjeldahlo-ova kiveta sa razrijeđenim uzorkom stavljena je na svoje mjesto i zatvorena su sigurnosna vratašca. Destilacija se provodila 4 min prilikom čega je dozirano 50 mL 40% NaOH u Kjeldahlovu kivetu. Zelena boja destilata ukazivala je na prisustvo amonijaka. Da ne bi došlo do gubitka amonijaka destilat je potpuno ohlađen.

Filtracija

Nakon završetka destilacije Erlenmayer tikvice, u kojima se nalazila borna kiselina s destilatom, titrirane su s 0,2 M otopinom HCl – a. Otopina je u završnoj točki titracije poprimila blijedo ružičastu boju. Iz utrošene količine HCl – a izračunamo udio proteina prema formuli:

$$\%N = \frac{(A-B) \cdot c(\text{HCl}) \cdot Ar(\text{N})}{m(\text{uz.}) \cdot 10}$$

$$\% \text{ bjelančevina} = \%N \cdot f$$

A – V(HCl) za uzorak

B – V (HCl) za slijepu probu

c (HCl) - množinska koncentracija HCl

m (uz.) – masa odvagane uzorka u g

Ar (N) - relativna molekulska masa dušika

f – faktor koji iznosi 6, 25

3.2.3. Određivanje oksidacije masnih kiselina

Za određivanje lipidne oksidacije korišten je TBA test. TBA test je test tiobarbiturne kiselina koji se koristi za detekciju oksidacije nezasićenih masnih kiselina i masti. Ovisi o razvoju crvenog pigmenta koji nastaje reakcijom TBA s malondialdehidom (MDA).

Postupak određivanja stupnja oksidacije započet je vaganjem 10 g ($\pm 0,001$ g) uzorka te je u epruvetu s uzorkom odpipetirano 20 mL 7,5% otopine TCA. Nakon toga sve zajedno homogenizirano je na Ultraturaxu (slika 3.). Homogenizirani uzorak ostavljen je da miruje 30' te je profiltriran. 5 mL filtrata je odpipetirano u bočicu, dodano je 5 mL TBA, bočica je zatim zatvorena i stavljena u vodenu kupelj na 100 °C. Nakon 40 min bočice su ohlađene pod mlazom hladne vode te je očitana apsorbancija na spektrofotometru na 538 nm. Pomoću očitane apsorbancije i baždarnog pravca (Slika 7.) izračunata je koncentracija malondialdehida (MDA).

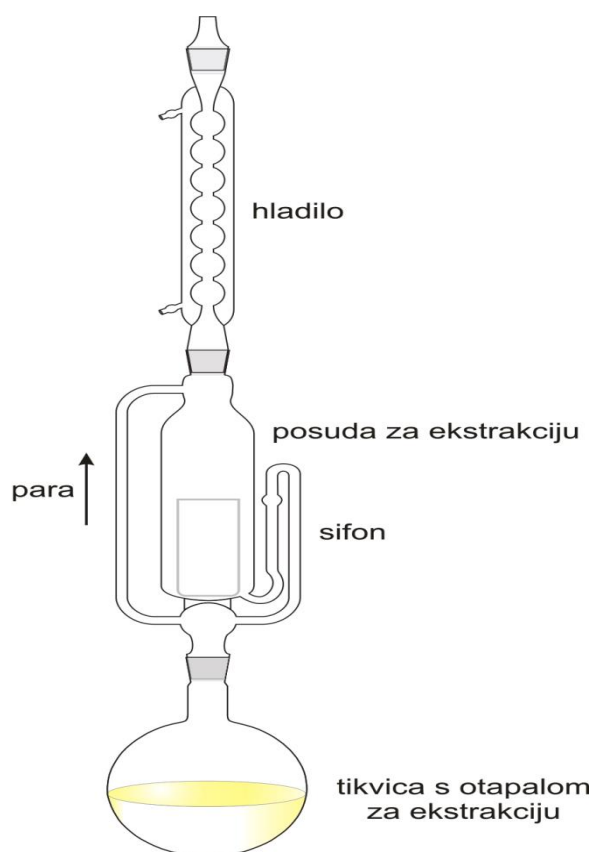


Slika 3. IKA Ultraturax [13]

3.2.4. Određivanje udjela masti

Udio masti u trajnim kobasicama određen je prema standardnoj metodi po Soxhletu. Ekstrakcijom masti po Soxhletu određuje se slobodna mast, a aparatura se sastoji od tikvice, ekstraktora i hladila. U tikvicu su stavljene kuglice za vrenje te su zajedno sušeni u sušioniku i nakon toga su izvagani. U odmašćeni tuljac (čajuru) za ekstrakciju je odvagano 5 g ($\pm 0,001$ g) uzorka. Čahura je pokrivena slojem odmašćene suhe vate i stavljena u ekstraktor aparata po Soxhletu. Zatim je spojena s hladilom i tikvicom te je dodano oko 150 mL petrol-

etera i započela je ekstrakcija. Ekstrakcija je trajala oko 6 sati. Kada se otapalo iz ekstraktora prelilo u tikvicu, a čahura je u ekstraktoru bila bez otapala uređaj je rastavljen i izvađena je čahura s uzorkom. Nakon toga uređaj je ponovo sastavljen i predestilirano je otapalo iz tikvice u prazan ekstraktor. Pri završetku destilacije otapalo je odliveno iz ekstraktora. Tikvica s ekstraktom sušena je pri 100-102 °C do konstantne mase te ohlađena u eksikatoru do sobne temperature i izvagana.



Slika 4. Shematski prikaz aparature po Soxhletu [14]

3.2.5 Određivanje sastava masnih kiselina

Sastav masnih kiselina određivan je plinskom kromatografijom. Za određivanje sastava potrebno je prevesti masne kiseline u njihove metilne estere. Metilni esteri pripremljeni su metodom po Bannonu [15].

Priprema metilnih estera

Metilni esteri pripremljeni su metodom transesterifikacije prema normi [16]. U epruvetu sa staklenim čepom, volumena oko 10 mL, odvagano je 60 mg uzorka masti i otopljeno u 4 mL

izooktana. Zatim je u epruvetu dodano 200 μ L metanolne otopine KOH ($c = 2 \text{ mol/L}$) te je snažno protresano 30 sekundi i ostavljeno na sobnoj temperaturi da reagira. Kada se reakcijska smjesa izbistrila i kada se odvojio glicerolni sloj na dnu epruvete, dodano je 1 g natrijeva hidrogensulfata monohidrata da bi se smjesa neutralizirala. Bistra otopina prebačena je u vijalicu.

Analiza metilnih estera masnih kiselina

Metilni esteri analizirani su standardnom metodom prema normi [17]. Pripremljeni uzorci analizirani su na plinskom kromatografu (Agilent Technologies 6890N Network GC System – Santa Clara, SAD) opremljenim sa plamenoionizacijskim detektorom (FID) koji je preko kanala spojen s računalom. Korištena je kapilarna kolona DB-23 (Agilent; 60 m x 0,25 mm, debljina film 0,25 μ m) ispunjena stacionarnom fazom s 70% cijanopropil-silikona. Kao plin nosioc korišten je helij čija je brzina protoka 1,5 mL/min. Temperatura injektora iznosila je 250 °C, a temperatura detektora 280 °C.

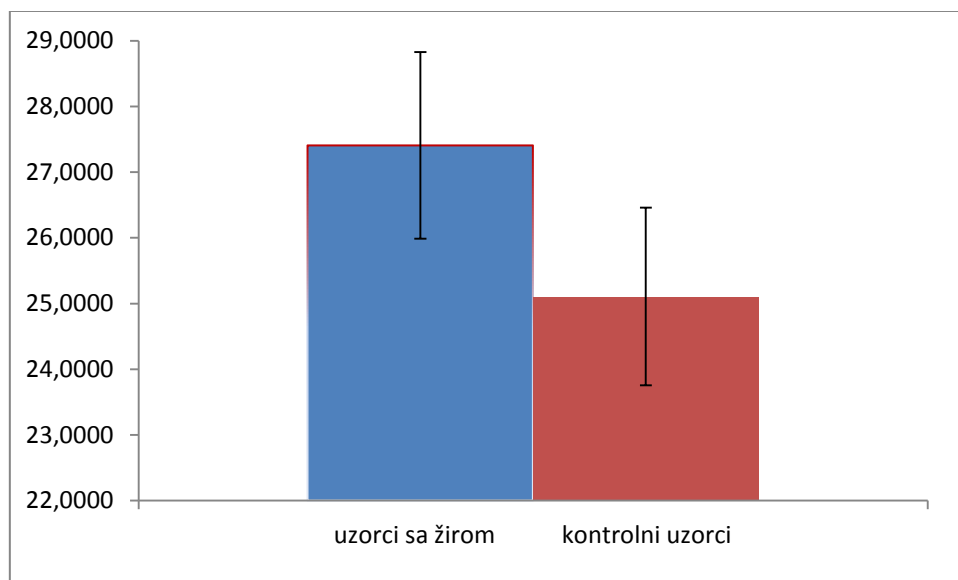
Masna kiselina identificirana je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina (F.A.M.E C4 – C24, Supelco) poznatog sastava.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Svrha ovoga rada je odrediti utjecaj hranidbe svinja na kemijski sastav (udio vode, proteina, masti), sastav masnih kiselina te stupanj oksidacije masti u trajnim kobasicama. Za oba uzorka trajnih kobasica (uzorci sa žirom i kontrolni uzorci) istraživanje je provedeno na 4 paralelne probe. Rezultati istraživanja prikazani su grafički kao srednje vrijednosti paralelnih probi s pripadajućim standardnim devijacijama.

Voda

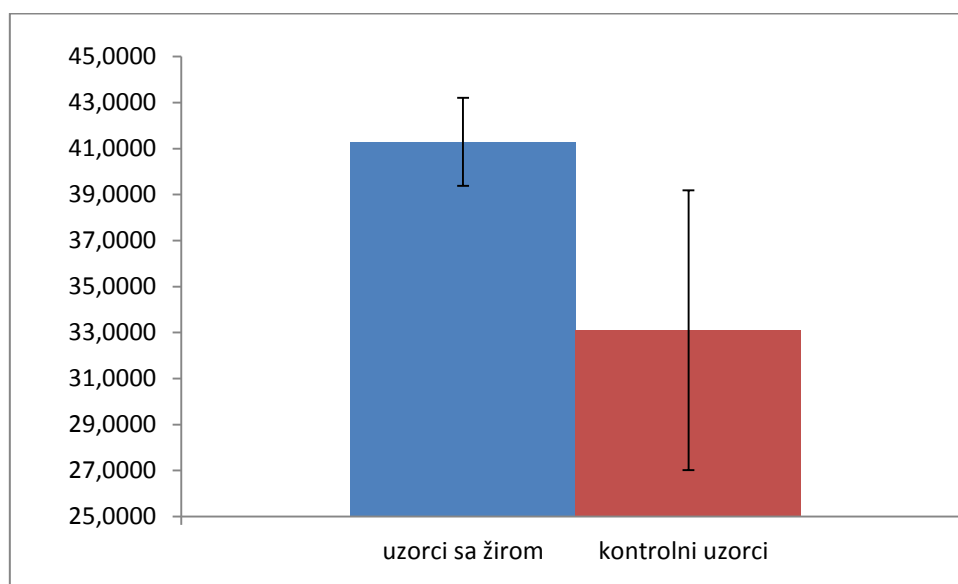
Voda je osnovni sastojak trajnih kobasica. Količina vode i njezina raspodjela utječe na kakvoću proizvoda (sočnost, nježnost, čvrstoću i izgled). Prema pravilniku propisani udio vode za trajne kobasice maksimalno smije iznositi 40% [1]. Slika 5. pokazuje da udjeli vode u oba uzorka kobasica odgovaraju propisanom pravilniku. U uzorcima sa žirom udio vode je nešto veći od kontrolnih uzoraka. Kod uzoraka sa žirom udio vode se kreće od 25,74% do 28,72%. U kontrolnim uzorcima udio vode je od 23,26% do 26,22%. Rezultati istraživanja slični su analizi drugih istraživanja gdje se udio vode u trajnim kobasicama kreće od 30,3% do 33,2 % [18].



Slika5. Grafički prikaz udjela vode (%) u trajnim kobasicama

Proteini

Trajne kobasice sadrže minimalno 16% proteina [1]. Proteini kobasica služe za proizvodnju energije ili kao građivni elementi. Proteini u trajnim kobasicama sadrže sve esencijalne aminokiseline, te se zbog toga kobasice svrstavaju u proizvode visoke prehrambene vrijednosti. Udio proteina u uzorcima sa žirom i kontrolnim uzorcima grafički je prikazan na slici 6.

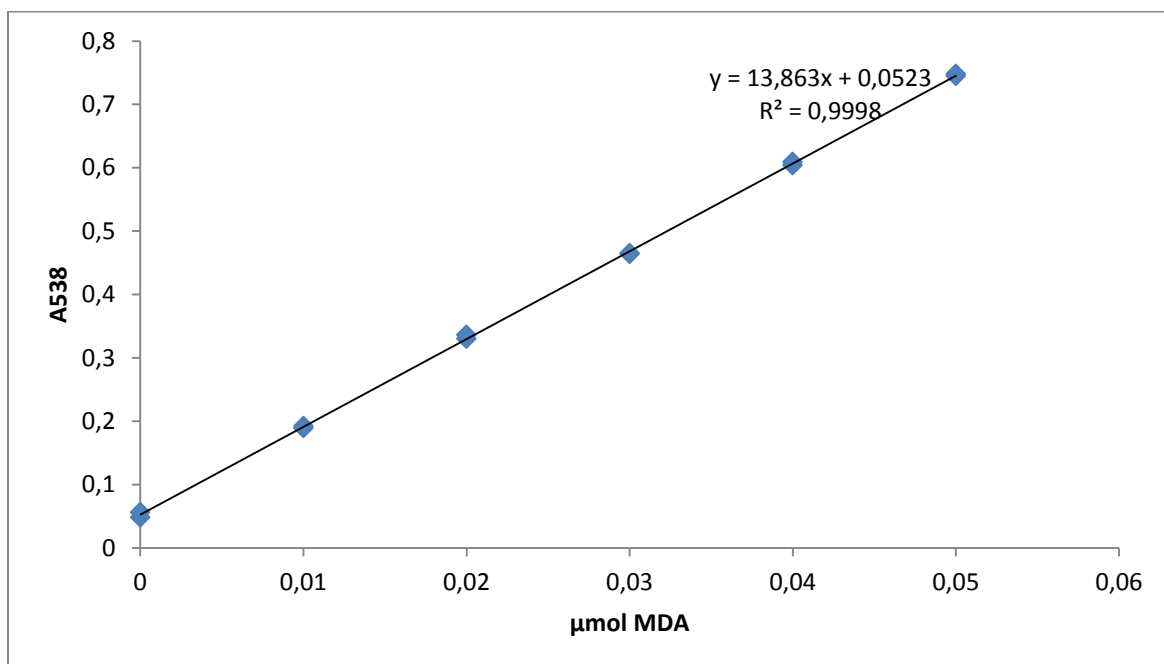


Slika 6. Grafički prikaz udjela proteina (%) u trajnim kobasicama

Uzorci sa žirom sadrže veći udio proteina. Proteini u tim uzorcima se kreću od 39,33% do 43,14%, dok je za kontrolne uzorke raspon udjela proteina od 28,77% do 40,05%. Oba uzorka trajnih kobasica odgovaraju propisanim zahtjevima.

Stupanj oksidacije

Trajne kobasice zbog sadržaja nezasićenih masnih kiselina izložene su oksidaciji. Oksidacija masti uzrokuje promjene na proizvodu (užeglost, neugodan miris). Stupanj oksidacije masti izražava se kao TBA vrijednost. TBA raste na početku te nastavlja s rastom za vrijeme zrenja [19]. Tijekom skladištenja kao posljedica reakcije malondialdehida (MDA) s proteinima i šećerima, vrijednost TBA se smanjuje [20].



Slika 7. Baždarna krivulja TBA

TBA vrijednost trajnih kobasica dobiven je izračunom iz očitanih podataka o apsorbanciji uzoraka i baždarne krivulje (slika 7.). U tablici 1. prikazane su srednje vrijednosti paralelnih probi s odgovarajućim standardnim devijacijama.

Tablica 1. Stupanj oksidacije masti u trajnim kobasicama

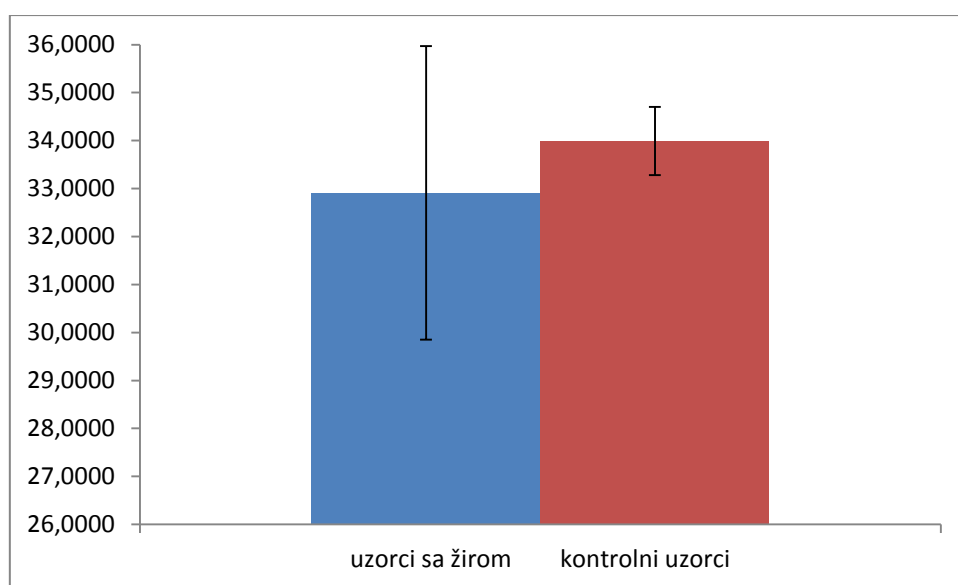
	mg (MDA)/ 100 g uzorka ± st. devijacija
žir	0,42 ± 0,31
smjesa	0,09 ± 0,06

Tablica 1. prikazuje da je kod uzoraka sa žirom stupanj oksidacije veći, iako oni sadrže manji udio nezasićenih masnih kiselina (UFS). TBA vrijednost za uzorke s žirom iznosila je 0,42±0,31mg MDA/100 g uzorka, dok je za kontrolne uzorke iznosila 0,09±0,06 mg MDA/100g uzorka.

Udio masti i sastav masnih kiselina

Trajne kobasice sadrže masti čiji je udio obrnuto proporcionalan udjelu vode. Udio masti u svinjskom mesu najviše varira od kemijskog sastava i ovisi o spolu, udjelu masnog tkiva, zaklanoj težini, anatomskoj lokaciji, debljini slanine i dr. [21]. Visok sadržaj masti u trajnim kobasicama i drugim fermentiranim proizvodima neophodan je za senzorska svojstva (tvrdoću, okus, sočnost) [22].

Na slici 7. grafički je prikazan udio (%) masti u uzorcima s pripadajućom standardnom devijacijom.



Slika 8. Grafički prikaz udjela masti (%) u trajnim kobasicama

Prema dobivenim podacima vidljivo je da je u uzorcima sa žirom udio masti nešto manji. Kod njih se udio kretao u rasponu od 29,23% do 36,03%. U uzorcima kontrolne smjese udio masti je od 33,41% do 35,02%.

Udio i vrsta masnih kiselina imaju značajnu ulogu u prevenciji i liječenju brojnih kroničnih poremećaja posebice kardiovaskularnih bolesti. Svjetska zdravstvena organizacija, u suradnji s drugim znanstvenim i zdravstvenim organizacijama su predložile optimalan unos ukupnih i nezasićenih masnih kiselina hranom. Unos masti bi trebao biti između 15 - 30% ukupnog energetskeg unosa. Unos zasićenih masnih kiselina (SFA) do 10%, polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) između 6 i 10% (ω -6: 5-8%; ω -3:1-2%), oko 10-15% mononezasićenih masnih kiselina (MUFA) i manje od 1% trans masnih kiselina [23]. Lipidi trajnih kobasica su uglavnom triacilgliceroli izgrađeni od zasićenih (SF), mononezasićenih (MUFA) i polinezasićenih masnih kiselina (PUFA).

Tablica 2. Sastav masnih kiselina (%) u trajnim kobasicama

Masna kielina	Uzorci sa žirom	Kontrolni uzorci
C14:0	1,49±0,02	1,45±0,02
C16:0	28,63±0,30	27,68±1,19
C16:1	2,17±0,05	2,26±0,10
C17:0	0,36±0,01	0,35±0,01
C17:1	0,26±0,02	0,35±0,04
C18:0	15,43±0,26	14,81±0,81
C18:1t	0,48±0,01	0,34±0,02
C18:1c	40,55±0,21	41,54±1,16
C18:2 ω-6	8,13±0,35	8,59±0,74
C18:3 ω-3	0,47±0,05	0,51±0,05
C20:0	0,23±0,00	0,22±0,01
C20:1	1,01±0,02	1,01±0,02
SFA	46,14±0,54	44,52±2,03
MUFA/PUFA	5,18±0,24	5,03±0,35
ω6/ω3	17,47±1,18	16,96±0,76
PUFA/SF	0,19±0,01	0,21±0,03

Sastav masnih kiselina, određen plinskom kromatografijom, prikazan je u tablici 1. Dobiveni rezultati pokazuju da uzorci sa žirom sadrže veći udio zasićenih masnih kiselina (SFA; $46,14 \pm 0,54\%$), a kontrolni uzorci sadrže nešto niži udio zasićenih masnih kiselina ($44,52 \pm 2,03\%$). Od zasićenih masnih kiselina u uzorcima sa žirom najzastupljenija je palmitinska $C_{16:0}$ ($28,63 \pm 0,30\%$). Udio palmitinske kiseline u kontrolnim uzorcima je iznosio $27,68 \pm 1,19\%$. Udio miristinske $C_{14:0}$ i $C_{17:0}$ je gotovo isti u oba uzorka. Uzorci sa žirom sadrže $1,49 \pm 0,02\%$ miristinske kiseline dok kontrolni uzorci sadrže $1,45 \pm 0,02\%$.

Udio nezasićenih masnih kiselina veći je kod kontrolnih uzoraka. Od mononezasićenih (MUFA) masnih kiselina obje skupine sadrže najviše oleinsku $C_{18:1}$ kiselinu (uzorci sa žirom $40,55 \pm 0,21\%$; kontrolni uzorci $41,54 \pm 1,16\%$). Udio palmitoleinske $C_{16:1}$ kiseline je za obje skupine vrlo sličan (uzorci sa žirom - $2,17 \pm 0,05\%$; kontrolni uzorci $2,26 \pm 0,10\%$). Od polinezasićenih masnih kiselina značajan udio ima linolna masna kiselina $C_{18:2}$ (ω -6) čiji udio u uzorcima sa žirom iznosi $8,13 \pm 0,35\%$, a u kontrolnim uzorcima $8,53 \pm 0,74\%$. Linolenska kiselina zastupljena je u vrlo malim količinama, a njezin udio se neznatno razlikuje između ispitivanih uzoraka.

Danas mnogi nutricionisti naglašavaju važnost omjera polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (PUFA/SF) te omjer ω -6/ ω -3 u odnosu na ukupni udio masnih kiselina. Prehrana bogata polinezasićenim masnim kiselinama snižava LDL kolesterol u krvi dok zasićene masne kiseline imaju suprotan učinak. Mnogobrojnim ispitivanjima je dokazano da smanjeno unošenje ω -6 masnih kiselina i povećano unošenje ω -3 masnih kiselina ima pozitivan efekt na zdravlje čovjeka [24]. Preporučuje se omjer PUFA/SF veći od 0,4. Omjer PUFA/SF u uzorku trajnih kobasica sa žirom iznosio je $0,19 \pm 0,01\%$, a u kontrolnim uzorcima $0,21 \pm 0,03\%$. Preporuka omjera ω -6 i ω -3 masnih kiselina je oko 4 [24]. U uzorcima sa žirom ω -6/ ω -3 je iznosio $17,47 \pm 1,18\%$, a u kontrolnim $16,96 \pm 0,76\%$. Ranija istraživanja [25] pokazala su da je kod nekih vrsta trajnih kobasica omjer ω -6/ ω -3 u uzorcima sa žirom iznosio $24,10\%$, a za kontrolne uzorke $69,26\%$. Također je utvrđeno da uzorci sa žirom sadrže manji udio zasićenih, a veći udio polinezasićenih masnih kiselina od kontrolnih uzoraka [25]. Razlika u rezultatima između radova može biti uzrokovana upotrebom različitih metoda analize ili pak različitim načinom uzorkovanja.

Žir zbog svojih antioksidacijskih svojstava i kemijskog sastava predstavlja značajno krmivo u hranidbi svinja. Jedna od karakteristika žira je njegov kemijski sastav. On obiluje mononezasićenim masnim kiselinama (MUFA), posebno $C_{18:1}$ ω -9 masnom kiselinom.

Obzirom na navedeno svojstvo hranidbom je moguće utjecati na promjenu masno-kiselinskog profila masnih kiselina svinjskih polovica. Dokazano je pozitivno djelovanje žira na kemijski sastav mesa svinja, posebno na njegov masno-kiselinski sastav. Žir je bogat taninima kao i α i γ tokoferolima. Oni pripadaju u skupinu nedušičnih biljnih polimera koji se vežu na proteine te smanjuju njihovu probavljivost [26]. Fenolne komponente i tokoferoli imaju znanstveno i komercijalno značenje zbog svog antioksidacijskog djelovanja te sposobnosti vezanja slobodnih radikala što ima pozitivan utjecaj na zdravlje ljudi te pridonosi sprječavanju pojave degenerativnih bolesti [27].

5. ZAKLJUČCI

1. Provedbom istraživanja utvrđeno je da ispitivane trajne kobasice sadrže odgovarajući udio vode i proteina propisan pravilnikom [1]. Udio vode, za uzorke sa žirom iznosi, oko 27,41% \pm 1,42, dok za kontrolne uzorke iznosi 25,11% \pm 1,35. Uzorci sa žirom sadrže 41,29% \pm 1,91 proteina, a kontrolni uzorci 33,10 \pm 6,08.

2. Ispitivanjem udjela masti i sastava masnih kiselina (MK) utvrđeno je da uzorci sa žirom sadrže manji udio masti (33%) od kontrolnih uzoraka (34%). Udio zasićenih masnih kiselina (SFA) veći je kod uzoraka sa žirom, dok kontrolni uzorci sadrže veći udio nezasićenih masnih kiselina (MUFA i PUFA). Omjer ω -6/ ω -3 masnih kiselina u uzorcima je vrlo sličan. Kod uzoraka sa žirom taj omjer iznosi 17,47% dok kod kontrolnih uzoraka omjer ω -6/ ω -3 iznosi 16,96%. Trajne kobasice su sadržavale značajan udio palmitinske C_{16:0} (28,63% - 27,68%), stearinske C_{18:0} (15,43% - 14,38%) i oleinske C_{18:1} (40,55% - 41,54%) kiseline.

3. Iako uzorci sa žirom sadrže manji udio masti(%) stupanj oksidacije masnih kiselina je veći. Vrijednost TBA za uzorke sa žirom iznosila je 0,42 \pm 0,31 mg MDA/100 g uzorka, dok je za kontrolne uzorke iznosila 0,09 \pm 0,06 mg MDA/100 g uzorka.

6. POPIS LITERATURE

- [1] Pravilnik o mesnim proizvodima (2012) *Narodne novine* **131**, Zagreb (NN 131/12).
- [2] Gonza'lez, E., Tejeda, JF., (2007) Biochemistry, Escuela de IngenieriasAgrarias, Universidad de Extremadura, Ctra de Cáceres s/n, 06071 Badajoz, Spain (online) <<http://www.cambridge.org.core>>Pristupljeno 9. kolovoza 2017.
- [3] Medić, H. (2016) Kemija i tehnologija mesa i ribe. Nastavni materijal, Prehrambeno-biotehnološki fakultet.
- [4] Anonymus 1 (2017) Farmia vodiče za kategorije svinjskog mesa <<https://farmia.rs/blog/vodic-za-kategorije-mesa>>Pristupljeno 29. srpnja 2017.
- [5] Anonymus 2 (2003) Sausage; Encyclopedia of Food and Culture <<http://www.encyclopedia.com>>Pristupljeno 16. kolovoza 2017.
- [6] Zeleni list (2009), Slavonski kulen, <<http://www.zeleni-list.net/tekstovi/79/slavonski-kulen-adama-zvonarevica>>Pristupljeno 1. kolovoza 2017.
- [7] Pravilnik o prehrambenim aditivima(2012) *Narodne novine* **79**, Zagreb (NN 79/12).
- [8] Kozačinski, L., Hadžiosmanović, M., CvrtićFleck, Ž., Zdolec, N., Filipović, I., Kozačinski, Z. (2008): Kakvoća trajnih kobasica i češnjovki iz individualnih domaćinstava. *Meso*, br. 1, str. 45 – 52.
- [9] Tehnologija hrane (2008), <<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/meso-kao-sirovina-u-proizvodnji-kobasica>>Pristupljeno 7. kolovoza 2017.
- [10] Tehnologija hrane (2009), Lipidi, <<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/lipidi>>Pristupljeno 2. kolovoza 2017
- [11] ISO 1442:1997, Meso i mesni proizvodi – Određivanje sadržaja vode
- [12] ISO 1871:2009, Food and feed products - General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method

- [13] Anonymus 3 (2017) <<http://www.totalpharmacysupply.com/ika-reg-ultra-turrax-reg-t25-digital-homogenizer.html>>Pristupljeno 17. Kolovoza 2017.
- [14] Anonymus 4 (2017), Kemijski riječnik,
<<http://www.glossary.periodni.com/rjecnik.php?page=5&hr=Winklerova+metoda>>.
Pristupljeno 7. kolovoza 2017
- [15] ISO 5509:2000, Internacional standard of animal and vegetable oils i fats – preparation of methylesters of fatty acids
- [16] HRN EN ISO 5509:2004, Životinjske i biljne masti i ulja – Priprema metilnih estera masnih kiselina (osnovna referentna metoda)
- [17] ISO 5508:1990, Internacional standard of animal and vegetable oils i fats – Analysis by gas chromatography of methylesters of fatty acids
- [18] Pleadin, J., Perši, N., Vulić, A., Đugum, J. (2009) Kakvoća trajnih, polutrajnih i obarenih kobasica na hrvatskom tržištu. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, br. 4, str. 104-108
- [19] Marco, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2006): The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Science* **73**, 660-673.
- [20] Ansorena D, Astiasaran I. 2004. The use of linseed oil improves nutritional quality of the lipid fraction of dry-fermented sausages. *Food Chemistry* **87**
- [21] Inmaculada, F., Martinez, A., Prieto, B., Carballo, J. (2002): Total and free fatty acids content during the ripening of artisan and industrially manufactured „Chorizo de cebolla“. *Grasas y Aceites* **53**, 403-413.
- [22] Olivares, A., Navarro, J. L., Salvador, A., Flores, M. (2010): Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science* **86**, 251–257.
- [23] Marušić, N., Petrović, M., Vidaček, S., Janči, T., Petrak, T., Medić, H. (2013), Udio masti i sastav masnih kiselina u istarskom i dalmatinskom pršutu, *Meso*, br.4, str. 269-274

[24] Simopoulos, P. A., (2004): Omega-6/ omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International* 20, str 77-90.

[25] Karolyi, D., Salajpal K., Kiš G. Đikić M., Jurić I. (2007) Influence of finishing diet on fatty acid profile of longissimus muscle of black slavonian pigs, *Poljoprivreda* [online], str. 176-179, <<https://hrcak.srce.hr/16132>>Pristupljeno 8. kolovoza 2017.

[26] Budimir K., Margeta V., Kralik G., Margeta G. (2013): Silvo-pastoralni način držanja crne slavonske svinje. *Krmiva* 55(3): 151-157.

[27] Anonymus 5 (2017) <http://sa.agr.hr/pdf/2015/sa2015_p0703.pdf>Pristupljeno 2. Kolovoza 2017

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Barišić Marija
Marija Barišić